

山 口 県
環境保健研究センター所報

第45号

(平成14年度)

山口県環境保健研究センター

調査研究報告目次

I 調査研究

西田 知子・吹屋 貞子・富永 潔・数田 行雄・片山 淳	47
真菌汚染が疑われた食品異物の検査依頼・相談事例	
西田 知子・堀切 裕治・中尾 利器・松村 健道・片山 淳	50
国内産・韓国産カキのノロウイルス汚染状況と県内の食中毒事例	
矢端 順子・富永 潔・富田 正章・松村 健道	53
カキの海水中における赤痢菌の取込みと生残	
長田健太郎・洲村 弘志・嘉村久美子・松田 義彦・田邊 泰・有田 正義	56
有害大気汚染物質のフィールド調査とシミュレーションについて	
洲村 弘志・嘉村久美子・長田健太郎・佐野 武彦・田邊 泰・松田 義彦 杉山 邦義・有田 正義	60
周南地域における大気中のハロゲン化炭化水素類について	
洲村 弘志・松田 義彦・今富 幸也・梅本 雅之・長田健太郎・嘉村久美子 有田 正義	64
宇部市における大気中の金属元素について	
福田 哲郎・歳弘 克史・大比田義昭・吹屋 貞子・手島 義人	70
ヨシを原料とした活性炭の吸着特性と水処理実験（第2報） - 環境教育への利用 -	
福田 哲郎・歳弘 克史・大比田義昭・吹屋 貞子・手島 義人	73
ヨシを用いた環境学習プログラムの作成（第3報）	
古谷 典子・洲村 弘志・下濃 義弘・田中 克正	75
樺野川水系における直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩の濃度分布	
澄田和歌子・古谷 典子・下濃 義弘・田中 克正	78
徳山湾、笠戸湾及び光海域における1,4-ジオキサンの濃度分布	
澄田和歌子・古谷 典子・下濃 義弘・田中 克正	80
キレートディスクカートリッジを用いた金属分析の検討	

II 他雑誌投稿論文抄録一覧

S. Oie, M. Kawakami, A. Kamiya, M. Tomita	83
In vitro susceptibility of four serotypes of Enterohaemorrhagic coli to antimicrobial agents	
田中 博・谷尾 進司・保科 健・富田 正章・中嶋 洋・榎 美代子 河本 秀一・清水 俊夫・砂原千寿子・安岡 富・井上 博・渡辺 治雄	84
中・四国地区における腸管出血性大腸菌感染症の疫学的解析と分離菌株の細菌学的検討	
富田 正章	85
輸入されたカキによる赤痢の diffuse outbreak 事件	
福永 健一・阿部 吉明・今富 幸也	86
陸水及びその集水域の窒素流動 [Flux] 調査	

CONTENTS

I. Investigation Articles

- Examination of Foreign Substances in Foods Spoiled by Fungal contamination
Tomoko NISHIDA, Sadako FUKIYA, Kiyoshi TOMINAGA
Ikuo KAZUTA, Atsushi KATAYAMA 47
- Detection of Norovirus in Japanese and Korean Oysters and in Specimen from Patients
of Food -- borne Gastroenteritis
Tomoko NISHIDA, Yuji HORIKIRI, Toshiki NAKAO
Kendo MATSUMURA, Atsushi KATAYAMA 50
- Internalization and Survival of *Shigella sonnei* within the Oyster
Junko YABATA, Kiyoshi TOMINAGA, Masaaki TOMITA
Kendo MATSUMURA 53
- The field research and the simulation of the air pollution substances
Kentaro OSADA, Hiroshi SUMURA, Kumiko KAMURA
Yoshihiko MATSUDA, Yasushi TANABE, Masayoshi ARITA 56
- Halogenated Hydrocarbons in the Air of Shunan Area
Hiroshi SUMURA, Kumiko KAMURA, Kentaro OSADA
Takehiko SANO, Yasushi TANABE, Yoshihiko MATSUDA
Kuniyoshi SUGIYAMA, Masayoshi ARITA 60
- Metallic Elements in the Air of Ube City
Hiroshi SUMURA, Yoshihiko MATSUDA, Yukiya IMATOMI
Masayuki UMEMOTO, Kentaro OSADA 64
- Adsorption Characteristics of Activated Carbon from Reed and the Experience of
Water Treatment (II) -- Utilization for Environmental Education --
Tetsurou FUKUDA, Katsushi TOSHIHIRO, Yoshiaki O' HITA
Sasako FUKIYA, Yoshito TESHIMA 70

Development of a Program for Environmental Study with Reed (III)	
Tetsurou FUKUDA, Katsushi TOSHIHIRO, Yoshiaki O' HITA	
Sadako FUKIYA, Yoshito TESHIMA	73
Distribution of Linear Alkylbenzenesulfonates in the Fushino Basin	
Noriko FURUYA, Hiroshi SUMURA, Yoshihiro SHIMONO	
Katsumasa TANAKA	75
Distribution of 1,4-Dioxane in the Tokuyama Bay, Kasado Bay and Hikari Sea Area	
Wakako SUMIDA, Noriko FURUYA, Yoshihiro SHIMONO	
Katsumasa TANAKA	78
Examination of Metal Analysis using Chelate Disk Cartridge	
Wakako SUMIDA, Noriko FURUYA, Yoshihiro SHIMON	
Katsumasa TANAKA	80

II NOTE

In vitro susceptibility of four serotypes of Enterohaemorrhagic <i>Escherichia coli</i> to antimicrobial agents	
S.Oie, M Kawakami, A Kamiya, M Tomita	83
Epidemiological and bacteriological investigation of enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> in the Chugoku - Shikoku area.	
Hi Tanaka, S Tanio, K Hoshina, M Tomita, H Nakajima	
M Sakaki, S Kawamoto, T Shimizu, C Sunahara, T Yasuoka	
H Inoue, H Watanabe	84
An incidence of diffuse outbreak of <i>Shigella sonnei</i> due to imported oysters.	
M Tomita	85
Investigation on nitrogen flux of inland water and its catchment area	
K Fukunaga, Y Abe, Y Imatomi	86

真菌汚染が疑われた食品異物の検査依頼・相談事例

山口県環境保健研究センター

西田 知子・吹屋 貞子・富永 潔・数田 行雄・片山 淳

Examination of Foreign Substances in Foods Spoiled by Fungal contamination

Tomoko NISHIDA, Sadako FUKIYA, Kiyoshi TOMINAGA, Ikuo KAZUTA, Atsushi KATAYAMA
Yamaguchi Prefectural Research Institute of Public Health

はじめに

真菌による食品汚染の弊害は、食品自体の異臭や変敗にとどまらず、因果関係が不明な例が多いものの、その摂取により下痢や嘔吐などの消化器症状を呈した症例や¹⁾、病原真菌摂取による易感染宿主における感染事例²⁾、さらにマイコトキシンによる急性・慢性中毒の発生事例³⁾などが報告されており、真菌の人の健康に及ぼす影響は複雑、多岐にわたっている。

真菌による食品内異物形成、および喫食事故を未然に防ぐためには、真菌特有の性質を把握した上での、適切な衛生指導が必要であり、種々の事例における原因真菌の分離・同定とデータの蓄積が不可欠である。

今回、我々は各健康福祉センターにおける真菌に関する確な苦情処理および衛生指導に資する目的で、過去4年間に当所に依頼のあった検査・相談事例の成績をとりまとめるとともに、真菌検査に関する問題点について考察した。

検査方法

1 実体顕微鏡観察

検査材料(異物)をシャーレに取り、実体顕微鏡で立体的に観察した。

2 直接鏡検

無染色の場合はラクトフェノールで、染色する場合はラクトフクシンで、光学顕微鏡により真菌要素(菌糸、分生子、酵母細胞)の有無を観察した。また必要に応じ、走査型電子顕微鏡による観察も行った。

3 分離培養

検査材料をクロラムフェニコール添加ポテトデキスト

コース寒天培地、M40Y寒天培地等に塗抹し、27℃、7～14日間培養した。

4 菌種同定

糸状菌については、形成されたコロニーを釣菌し、ジャイアントコロニーを形成させ、コロニーの発育温度および速度、大きさ、形態、表裏の色調等を観察した。さらにスライド培養を行い、詳細な形態学的観察を行って同定した⁴⁾。

酵母様真菌は、釣菌後、培地一面に画線塗抹して培養し形態を調べた。

なお、糸状菌の同定は属までとし、酵母様真菌については酵母細胞の確認まで行った。

結果

1 食品の種類、検査依頼理由および喫食の有無

4年間の総依頼件数は20件で、その対象食品の内訳は生菓子、ジュース・清涼飲料等、水分活性の高い食品が多かった(表1)。

表1 食品の種類、検査依頼理由および喫食の有無

食 品	検査依頼理由				
	カビ・異物	異味	異臭	喫食有	件数
菓子(生菓子)	6 (5)	1 (1)		3 (3)	7 (6)
飲料	4	2		4	6
半生麺	2				2
魚肉練り製品	1				1
果実	1				1
めんつゆ	1				1
魚卵	1				1
弁当	1		1		1
計	16	3	1	7	20

検査依頼理由は、肉眼的に真菌様の異物が確認されたことによるものが大部分16/20(80%)であった。喫食の有無については、飲料では6件のうち4件、生菓子では6件中3件という高い確率で喫食があった。なお、いずれも喫食者に特に健康被害はなかった。

1月、2月、4月を除くすべての月で検査依頼があった(図1)

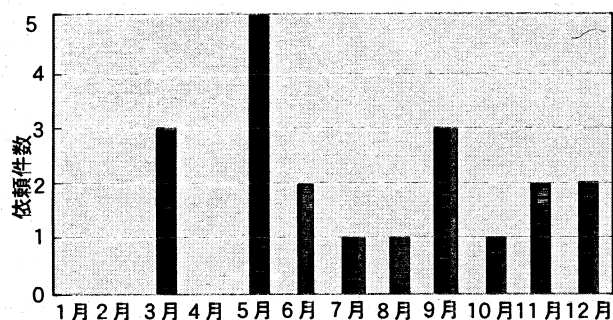


図1 月別検査依頼件数

2 食品別検出菌種

食品の種類別にみた検出菌種では、最も検出率の高かったのは酵母(23%)で、次いで *Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus* 属であった(表2)。

これらの真菌はいずれも自然界に広く分布しているもので、特定の汚染経路が示唆されるような菌種は認められなかった。

なお、真菌以外の事例が2件認められた。

表2 食品と検出菌種

検出菌種	件数
酵母	6
<i>Cladosporium</i> (クロカビ) 属	5
<i>Penicillium</i> (アオカビ) 属	3
<i>Aspergillus</i> (コウジカビ) 属	2
<i>Monirielia</i> 属	1
<i>Fusarium</i> (アカカビ) 属	1
<i>Rhizopus</i> (クモノスカビ) 属	1
<i>Geotrichum</i> (ミルク腐敗カビ) 属	1
<i>Curvularia</i> 属	1
<i>Exophiala</i> 属	1
<i>Phoma</i> 属	1
真菌(--)	2
計	26

3 真菌が否定された事例の詳細

(1) 魚肉ソーセージの包装の金輪部分へのカビ様のものの付着

ア カビ様異物

実体・光学顕微鏡観察では緑色の金属光沢のある破片様物に、大小不同の茶色の円形物が付着しているのが観察され、菌糸は確認されなかった。

イ 生産工場の魚肉絞り出し口の汚れ

異物と同様の所見であった。

以上の成績から、製品の汚れは、生産工場の魚肉絞り出し口の汚れが原因と考えられた。

(2) カップ式自動販売機の清涼飲料水中の赤色浮遊物

ア 異物

光学顕微鏡観察(1000倍)でグラム陽性細菌塊が認められ、走査電顕観察でも細菌塊を確認した。培養により2種類の細菌が分離された。

イ 自動販売機内の氷の注ぎ口付近の汚れ

光学顕微鏡観察では異物に認められたものとは菌種が異なる細菌塊が認められ、走査電顕観察にて細菌塊を確認した。培養により6種類の細菌および1種類の真菌が分離された。

以上の成績から、自動販売機内の氷の注ぎ口付近に増殖した細菌塊が、氷とともにカップ内に注入されたものと推察された。

4 真菌検査の際の問題点

(1) 液状食品中に存在した真菌の形状は、殆どの例において菌糸塊であった。胞子や分生子を形成していないため、直接鏡検しても成書に記載されている形態を示さず、属の判定ができなかった。

(2) *Cladosporium* 属のように菌体がバラバラになりやすい菌種、数種の真菌が混在している場合等は、直接鏡検のみでは菌属を決定するのは困難であった。

考察およびまとめ

1 真菌が疑われ、検査依頼された異物を検査した結果、大部分が真菌で、菌種としては酵母様真菌が最も多く、その他は11種類の糸状菌であった。これらの真菌は、特殊な病原真菌ではなく自然界に広く分布している真菌であり⁴⁾、環境からの汚染が推察された。

2 真菌は液状食品やゼリーの中など好気的でない環境下では、胞子や分生子を形成しないため⁵⁾、直接鏡検だけでは属の同定は不可能であった。このため、分離培養後の詳細な形態学的検査の必要性が示唆された。

3 異物20件中2件は真菌ではなかったことから、肉眼所見のみで異物が真菌であると判断せず、真菌検査を行うことが重要と考えられた。

参考文献

- 1) 一言広ほか：食品と微生物 Vol.4, No.2, 149 - 155, 1987.
- 2) 宇田川俊一：日本食品微生物学会雑誌13(4), 151 - 157, 1997.
- 3) 諸角 聖：中毒研究2, 377 - 384, 1989.
- 4) 高鳥浩介監修：かび検査マニュアルカラー図譜
- 5) 高鳥浩介：遺伝 53, 6, 19 - 23, 1999.

国内産・韓国産カキのノロウイルス汚染状況と県内の食中毒事例

山口県環境保健研究センター

西田 知子・堀切 裕治・中尾 利器・松村 健道・片山 淳

Detection of Norovirus in Japanese and Korean Oysters and in Specimen from Patients of Food-borne Gastroenteritis

Tomoko NISHIDA, Yuji HORIKIRI, Toshiki NAKAO, Kendo MATSUMURA, Atsushi KATAYAMA
Yamaguchi Prefectural Research Institute of Public Health

はじめに

平成13年に本邦で発生した微生物による食中毒事例のうち、ウイルスを原因とするものは発生件数では270件(16%)、患者数では7,371人(32%)を占めた¹⁾。ウイルス性食中毒の病因物質は、ノロウイルス(NV)が99%を占めており、NVによる食中毒は生カキの喫食に起因するものが最多となっている¹⁾。今回、市販生食用カキのNV汚染状況を明らかにするため生食用カキのNV汚染状況を調査し、併せて本県で発生した二枚貝の喫食が原因と推定される食中毒事例について検討した。

材料と方法

1 調査材料

2001年11月～2002年4月にかけて市販されていた国内産および韓国産カキ111検体と同期間に県内で発生した二枚貝の喫食が原因と推定された食中毒事例のNV遺伝子陽性患者・従業者便23検体。

2 調査方法

カキから抽出したNVのカプシド領域遺伝子を増幅し、リアルタイムPCRにより定量した。さらに塩基配列を決定し分子系統樹を作成、食中毒事例の患者・従業者由来株の塩基配列と併せて分子疫学調査を実施した。

(1) カキのNV遺伝子の定量と解析

ア カキの中腸腺を国内産は5個、韓国産は2個を一検体とした。滅菌PBS(--)で乳剤を作製し、粗遠心の後、超遠心処理を行った。沈査を滅菌超純水

に再浮遊後、RNAを抽出し、DNase処理を行い、逆転写酵素によってcDNAを作成した。

イ 作製したcDNAを用い、影山らによるリアルタイムPCR(2)によってNVのcDNAコピー数を遺伝子型別に定量した。

本法におけるリアルタイムPCR検査で陽性と判定されるのは10コピー以上で、これに希釈率をかけ、カキ1個当たり150コピー以上を陽性とした。ウ PCRを行い、ダイターミネーター法でカプシド領域の塩基配列を決定した²⁾。

(2) 食中毒患者・従業者便由来NV遺伝子解析

滅菌PBS(--)で乳剤を作製し、遠心上清からRNAを抽出した。DNase処理を行い、逆転写反応の後、PCRを行い、陽性バンドを確認したものについてダイターミネーター法でカプシド領域の塩基配列を決定した。

(3) 検査に用いたプライマー及びプローブ(図1)

カキのリアルタイムPCRにはプライマーとしてCOG1F/COG1R, COG2F/COG2R, プローブとしてRING1-TP(a)/(b), RING2-TPを、遺伝子解析のための1st PCRにはCOG1F/G1-SKR, COG2F/G2-SKR, 2nd PCRにはG1-SKF/G1-SKR, G2-SKF/G2-SKRプライマーセットを用いた。

食中毒患者・従業者便のNV遺伝子解析にはG1-SKF/G1-SKR, G2-SKF/G2-SKRプライマーセットを用いた³⁾。

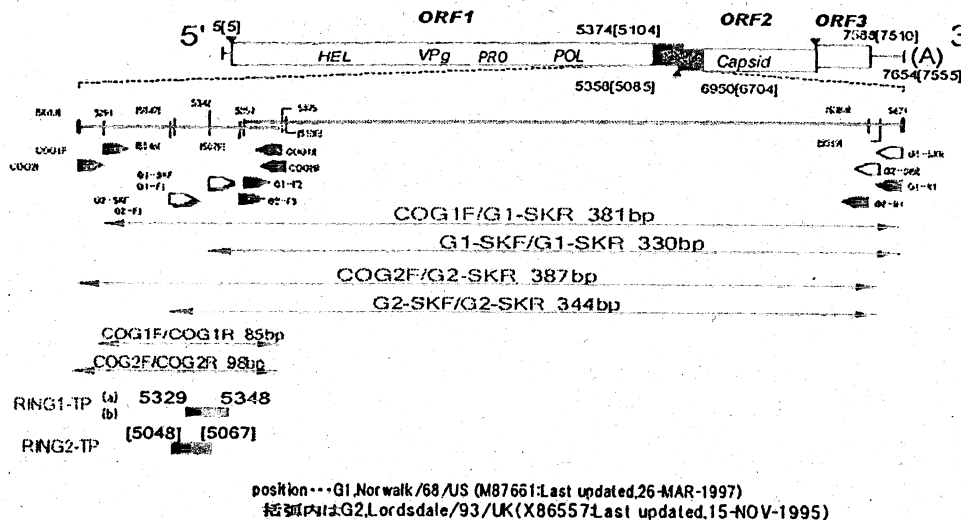


図1 リアルタイムPCRと遺伝子解析のためのプライマー、プローブ

結果

1 国内産カキのリアルタイムPCR検査結果

1月から3月にかけて陽性のものがみられた(表1)。

表1 国内産カキのNV汚染状況('01.11月~'02.4月)

月	検体数	NV陽性検体数	陽性率(%)
11	16	0	
12	12	0	
1	17	2	12
2	11	2	18
3	8	1	13
4	3	0	
計	67	5	7

2 韓国産カキのリアルタイムPCR検査結果

NV遺伝子検出率は低かった(表2)。

表2 韓国産カキのNV月別汚染状況

月	検体数	NV陽性検体数	陽性率(%)
11	43	2	5
12	1	0	
計	44	2	5

3 食中毒患者・従業者便からのNV遺伝子検出と原因食品の追求

この期間に発生した食中毒6事例のうち、5事例で非加熱二枚貝の喫食があり、検査した患者・従業者30名中23名がNV遺伝子陽性であった。

非加熱二枚貝の喫食があった食中毒5事例のうち、検査が残っていた2事例16検体について検査を行ったが、

NV遺伝子は検出されなかった。

4 NV遺伝子の塩基配列決定と分子系統樹(UPGMA法)の作成

市販カキ及び食中毒患者・従業者由来NV遺伝子の塩基配列を決定し、90%以上の相同性を持つものを1グループにしてC-1からC-27に分類し、UPGMA法で系統樹を作成した。

二枚貝喫食が原因として疑われた食中毒患者・従業者由来株の遺伝子型は多様で、一人から複数の遺伝子型のNVが検出された例もあった(表3, 図2)。

表3 食中毒事例の患者・従業者由来NV遺伝子型

事	例	シーケンス
H13.12.15	防府 飲食店 (ミル貝喫食有り)	C-3,C-13 C-4 C-5,C-10
H14.1.22	下関 家庭 (カキ喫食有り)	C-6 C-6 C-11
H14.1.20		C-13 C-6,C-13 C-11 C-18 C-8,C-13 C-8,C-13 C-13 C-13 C-13 C-6,C-13
H14.1.26	広島 飲食店 (カキ喫食有り)	C-4,C-13 C-16
H14.2.24	下関 家庭 (カキ喫食有り)	C-16 C-16 C-10 C-6
H14.4.19	長門 小学校	C-13 C-13 C-13 C-13 C-13(二次感染) C-13(二次感染) C-13(二次感染) C-13(二次感染)

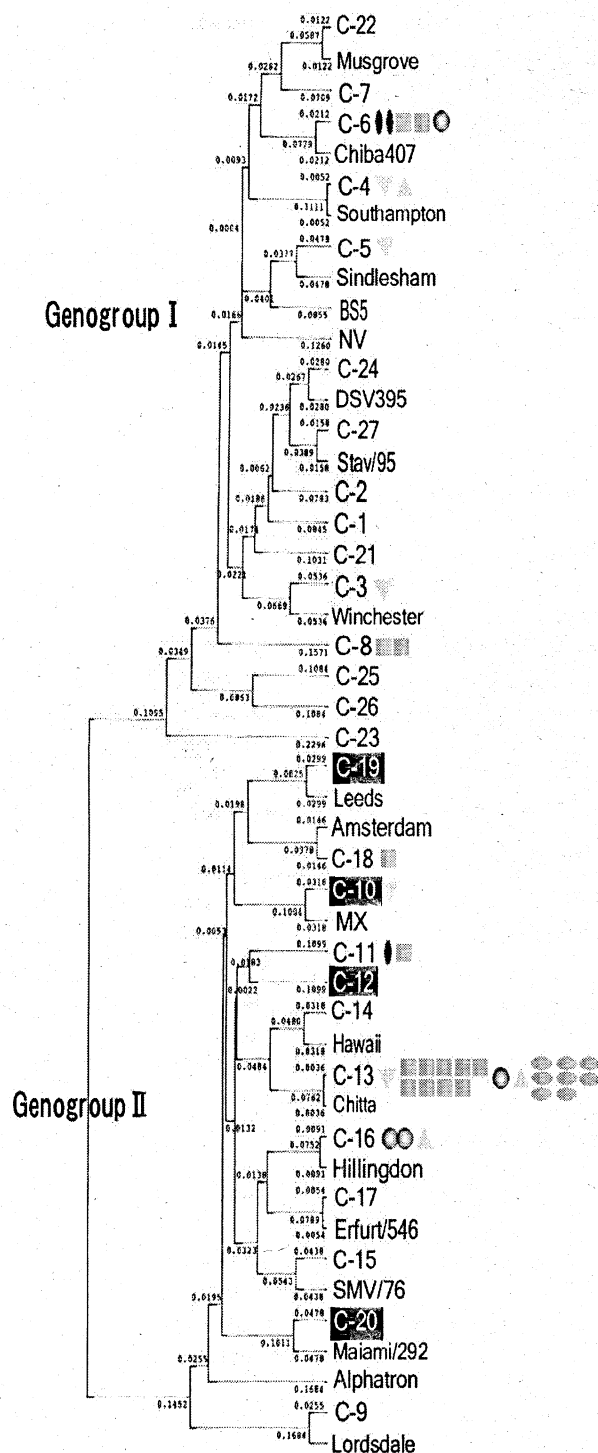


図2 NV分子系統樹(カプシド領域)

考察およびまとめ

- 1 調査した国内産7%(5/67), 韓国産5%(2/44)のカキからNV遺伝子が検出された。
- 2 1月~3月に生食用カキからNV遺伝子が検出されたことから、この時期のNVによる食中毒に注意する必要があると考えられた。
- 3 韓国産カキからのNV遺伝子検出率が低かった理由は、検体の大部分が11月に採取されたものであったためと推察された。
- 4 二枚貝が原因食品と推定される食中毒事例の患者・従業者便由来NV遺伝子型は多様であった。
- 5 市販カキ由来のNV遺伝子型は、県内の食中毒患者・従業者便由来のものと異なる結果であった。これは、調査した市販カキの採取海域と、原因と推定された二枚貝の採取海域とが異なっていたためと推察された。今後、より広域におよぶ市販カキの調査が必要と考えられた。

本研究は平成13年度厚生科学研究生活安全総合研究の一環として行った。

謝辞

NV遺伝子の定量と塩基配列の決定を行ってくださった国立感染症研究所、西尾治博士に深謝します。

文献

- 1) <http://www.mhlw.go.jp/topics/syokutyu>
- 2) Kageyama, T., et al. 2003. J. Clin. Microbiol. 41: 1548-1557
- 3) Kojima, S., et al. 2002. J. Virol. Methods 100: 107-114.

カキの海水中における赤痢菌の取込みと生残

山口県環境保健研究センター

矢端 順子・富永 潔・富田 正章・松村 健道

Internalization and Survival of *Shigella sonnei* within the Oyster

Junko YABATA, Kiyoshi TOMINAGA, Masaaki TOMITA

Kendo MATSUMURA

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Public Health

はじめに

平成13年11月から12月にかけて西日本を中心とした30都府県で159名の細菌性赤痢患者の発生があった。疫学調査の結果、山口県内の2業者が出荷したカキが感染源として推定され、回収等の措置が講じられた。これらのカキは韓国から冷凍の状態で輸入されており、厚生労働省は同時期に輸入された韓国産カキから分離された赤痢菌の遺伝子型が、患者便由来の赤痢菌と一致したことを公表した¹⁾。カキを原因とした赤痢患者の集団発生事例は国内ではなく、確立した検査法もない状態での感染源の追求は困難を極めた。この事例では、韓国産カキが、どのような経緯で赤痢菌の汚染を受けたのかは解明されていないが、養殖海域に流入した赤痢菌によって、カキが汚染されたと推測される。米国の事例²⁾では、養殖海域に汚水が捨てられていたことによりカキが赤痢菌による汚染を受け、集団発生につながっている。

カキに起因する食中毒の主要な病因である小型球形ウイルス(SRSV)は、下水から河川水を通してカキの養殖海域に流入し、カキの体内に取り込まれると言われている³⁾。赤痢菌についても、SRSVと同様にカキの体内に取り込まれ、流通後のカキにおいても赤痢菌が生残し感染源となることが考えられる。

本研究では、カキが赤痢菌に汚染された時の菌の生残期間及びその影響因子について検討した。

材料及び方法

1 カキ及び海水

使用したカキは山口県秋穂町地先沿岸に生息する天然カキで、長期間の飼育による活力低下を防ぐため、実験前日に採取した。採取したカキは実験までの間、採取場

所の海水を入れた容器内で、エアポンプを用いて持続的に通気した状態で飼育した。海水はカキの餌となるプランクトン等を含むため、滅菌や濾過などを行うことなくそのままの状態で使用した。検査に用いたカキの重量は、むき身の状態で2.4~7.3g(平均4.5g)であった。

2 供試菌

供試菌は、平成13年12月に韓国産カキの喫食を原因とした赤痢患者の便から分離された*Shigella sonnei*(*S. sonnei*)で、トリプトソイブイオン培地(日水)3mlで35℃18時間培養後、培養液の0.1mlを滅菌生理食塩水100mlに懸濁し、 5.8×10^5 /mlの菌液として使用した。

3 カキの*S. sonnei*の取り込み試験

容量20Lの容器にカキを採取した場所の海水を2L入れ、*S. sonnei*の菌液2mlを添加、混和後、カキを20個入れた。室温(25℃)で6時間、曝露した後、3個のカキを取りだし、10 ppmの次亜塩素酸ソーダ液に浸し、表面を消毒した後、無菌的に殻を開けて中身を取りだし、1個ずつ滅菌ストマフィルターに採取した。カキの重量を測定した後、袋の上からカキを手でもみホモジナイズし、カキの重量の倍量のシゲラブロスを入れ混和した。この2倍希釈試料についてシゲラブロスを用いた最確数法(5本法)により、カキ中の*S. sonnei*の菌数を測定した。シゲラブロスの各希釈系列の培養は、厚生労働省の示した方法⁴⁾に基づき、嫌気条件下(アネロパック法)で42℃、20時間行った。選択分離培地には、DHL寒天培地(日水)、SS寒天培地(日水)、クロモアガー-TAM培地(関東化学)の3種類を用い、シゲラブロスの培養液を画線塗抹し、35℃20時間培養した。*S. sonnei*の確認は、各選択分離培地上の赤痢菌が疑われるコロニーについ

て、TSI培地とLIM培地における生化学性状と、血清学的検査により行った。

4 カキ中の *S. sonnei* の生残期間の試験

*S. sonnei*を6時間曝露させたカキを、新しい海水(菌未接種)2Lに移し、3日後、7日後及び10日後に、カキ及び海水中から *S. sonnei* の分離とその菌数を、取り込み試験の方法と同様の方法で測定した。なお、海水は、カキの排泄物等による劣化を防ぐため、2日毎に新しいものと交換し、エアポンプで一定速度で通気した。

結果

6時間曝露後、3日後、7日後及び10日後の海水及びカキの *S. sonnei* の菌数を表1に示す。6時間曝露後の海水中の菌数は、 4.6×10^2 /mlであった。カキ1gあたりの *S. sonnei* の菌数は0.4~240と幅広かったが、海水中の菌数の約34%であった。6時間曝露後に、菌未接種の新しい海水に移したカキについて、3日後に検査した結果、3個のカキの内1個から、100gあたり40個(0.4/g)の *S. sonnei* を検出した。7日後及び10日後の検査では、それぞれ4個及び5個のカキを検査したが、*S. sonnei* は検出されなかった。また、海水中の *S. sonnei* は、3日後以降検出されなかった。

考察

カキが細菌を大量の海水とともに内蔵に取り込むことについてはいくつかの報告がある⁵⁾⁶⁾。今回の実験においても、海水から赤痢菌が検出されなくなった後も菌を保有していたことは、赤痢菌がカキに取り込まれた後一定期間生残していたことを示す。しかしながら、曝露後1週間でカキの保有菌数は検出下限値以下になっており、

菌の保有は一過性のものと考えられた。カキが大腸菌などの細菌を取り込み、排出する速度には水温が関与しているとの報告がある⁶⁾。今回の実験は、25℃の室温で実施したが、カキが主に出荷される冬期では、水温が低下し、生残期間が長くなる可能性がある。

今回の実験においては、同一の飼育条件でも、赤痢菌の保有菌数にはばらつきがみられ、個々のカキの活力状態が菌の取り込みと生残に関係しているものと考えられた。このことは、養殖場において大量のカキが同じ曝露を受けた場合でも、個体によって、赤痢菌の汚染状況に違いが生じることを示唆する。

カキが赤痢菌の汚染を受けた初期には、赤痢菌がカキの内部に取り込まれているため、殻付き及びむき身いずれの状態でも、洗浄操作のみでは赤痢菌を除去できないと考えられる。加工、流通過程の中での二次汚染も考慮する必要がある。

赤痢菌の増菌培養について、霜鳥ら⁷⁾はシゲラブロスを用いた検査法で、その検出下限値は1gあたり10個ないしはそれ以上と報告しており、韓国産冷凍輸入カキから赤痢菌を分離した宮原ら⁸⁾は緩衝ペプトン水による前増菌培養後シゲラブロスによる増菌を行い、このカキの汚染菌量は0.2CFU/gと報告した。赤痢菌では極めて少量の菌で感染が起こることや、カキのような食品では、様々な細菌による汚染のため、赤痢菌の発育が抑制される可能性も考えられる。また、冷凍などにより、菌が損傷を受けていることも考慮する必要がある。小沼ら⁹⁾は緩衝ペプトン水を使用した前増菌培養の方法についても検討している。今後、さらに検査法の改良を検討し、効果的な検出方法を開発していく必要がある。

表1 海水及びカキからの *S. sonnei* の検出状況

	6時間後		3日後		7日後		10日後	
	重量(g)	菌数(/100g)	重量(g)	菌数(/100g)	重量(g)	菌数(/100g)	重量(g)	菌数(/100g)
カキ	7.3	24,000	3.5	<30	3.5	<30	4.5	<30
	5.5	40	6.6	40	3.6	<30	3.2	<30
	5.9	24,000	3.7	<30	3.8	<30	3.7	<30
					5.1	<30	6.8	<30
							2.4	<30
海水	46,000/100ml		<3/100ml		<3/100ml		<3/100ml	

文献

- 1) 佐野喜彦：食品衛生研究. 52(9), 35～41 (2002)
- 2) Reeve, G. et al. : N. Engl. J. Med. 321(4), 224～227 (1989)
- 3) 関根大正ほか：日食微誌. 14(3), 135～143 (1997)
- 4) 厚生労働省医薬品局食品保健部監視安全課：平成14年1月9日付事務連絡 (2002)
- 5) Dore, W.T. et al. : Appl. Environ. Microbiol. 61(8), 2830～2834 (1995)
- 6) Hartland, B.J. et al. : Appl. Environ. Microbiol. 37(3), 517～520 (1979)
- 7) 霜鳥翔一ほか：感染症誌. 64(10), 1337～1344 (1990)
- 8) 宮原美知子ほか：防菌防黴. 30(5), 299～302 (2002)
- 9) 小沼博隆ほか：厚生科学研究費補助金(厚生科学特別研究事業)平成13年度研究報告書食品から赤痢菌検出に関する研究 (2002)

有害大気汚染物質のフィールド調査とシミュレーションについて

山口県環境保健研究センター

長田 健太郎・洲村 弘志・嘉村 久美子・松田 義彦・田邊 泰・有田 正義

The field research and the simulation of the air pollution substances

Kentaro OSADA, Hiroshi SUMURA, Kumiko KAMURA, Yoshihiko MATSUDA, Yasushi TANABE,
Masayoshi ARITA

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health

はじめに

山口県周南市は市内中心部を国道2号線が通り、南部には大工業地帯を有するため、自動車排ガス測定局のデータや有害大気汚染物質モニタリングの結果は全国的にみても高濃度となっている。

そこで、筆者らは周南市においてベンゼン等約50種類の有害大気汚染物質について濃度調査や経時変化調査を行い、これらのデータから固定発生源や移動発生源についての分析や解析を試みた¹⁻⁴⁾。

さらに今回は有害大気汚染物質の濃度分布と拡散のフィールド調査をおこない、発生源シミュレーションプログラムによる濃度分布予測との比較を試みた。

方 法

1 調査地点

調査地点は周南市(旧徳山市)内の5地点でおこなった。周南市は人口約16万の地方の小都市だが、海岸沿いに工場地帯が密集している工業都市でもあり、有害大気汚染物質の濃度が高いことでも知られている。

調査地点は、工場地帯からの影響と国道の影響を考え、図1のように市内の海岸沿いから国道2号線をまたいで山間部の後背地までに至るほぼ直線上とした。

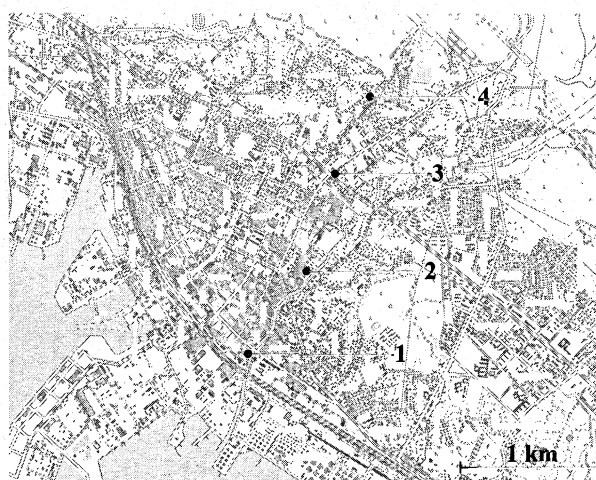


図1 調査地点(周南市)

No.1 橋本町公園、No.2 御弓町公園、No.3 辻自動車排ガス測定局、No.4 東金剛山付近、No.5 後背地 (No.1より北北東7km上、地図の範囲外)

2 調査日時

調査は2002年7月16日(火)の15時におこなった。天候は前日の夜は雨だったが夜半には止み、当日は一日中晴時々曇りで、ほぼ安定して風速2~5m/sで南西の風が吹いていた。最低気温は24度、最高気温は30度であった。

3 試料採取及び分析方法

サンプリングは、調査地点の大気を6Lのステンレス製キャニスター容器に捕集し、GC/MS (HP6890/HP6971) で定量をおこなった。

分析方法は有害大気汚染物質測定マニュアルのキャニスター法に準拠し、カラムはHP-1 (0.25mm i.d, 1 μ m film, 60m) を使用し、測定モードはSCANでおこなった。

詳細な気象データは周南市内の大気汚染常時監視測定局及び自動車排ガス測定局の各データを使用した。

発生源シミュレーションプログラムMETILIS (Ver. 1.02) は経済産業省のWebサイトよりダウンロードし、CPU Celeron 650MHz, メモリ384Mbyteのパーソ

ナルコンピュータで解析をおこなった。^{5,6)}

発生源の推計及びパラメータ等は「詳細リスク評価書」⁷⁾に準拠した。

結果と考察

(1) 有害大気汚染物質の濃度分布

検出されたいくつかの有害大気汚染物質の濃度分布を図2に示す。

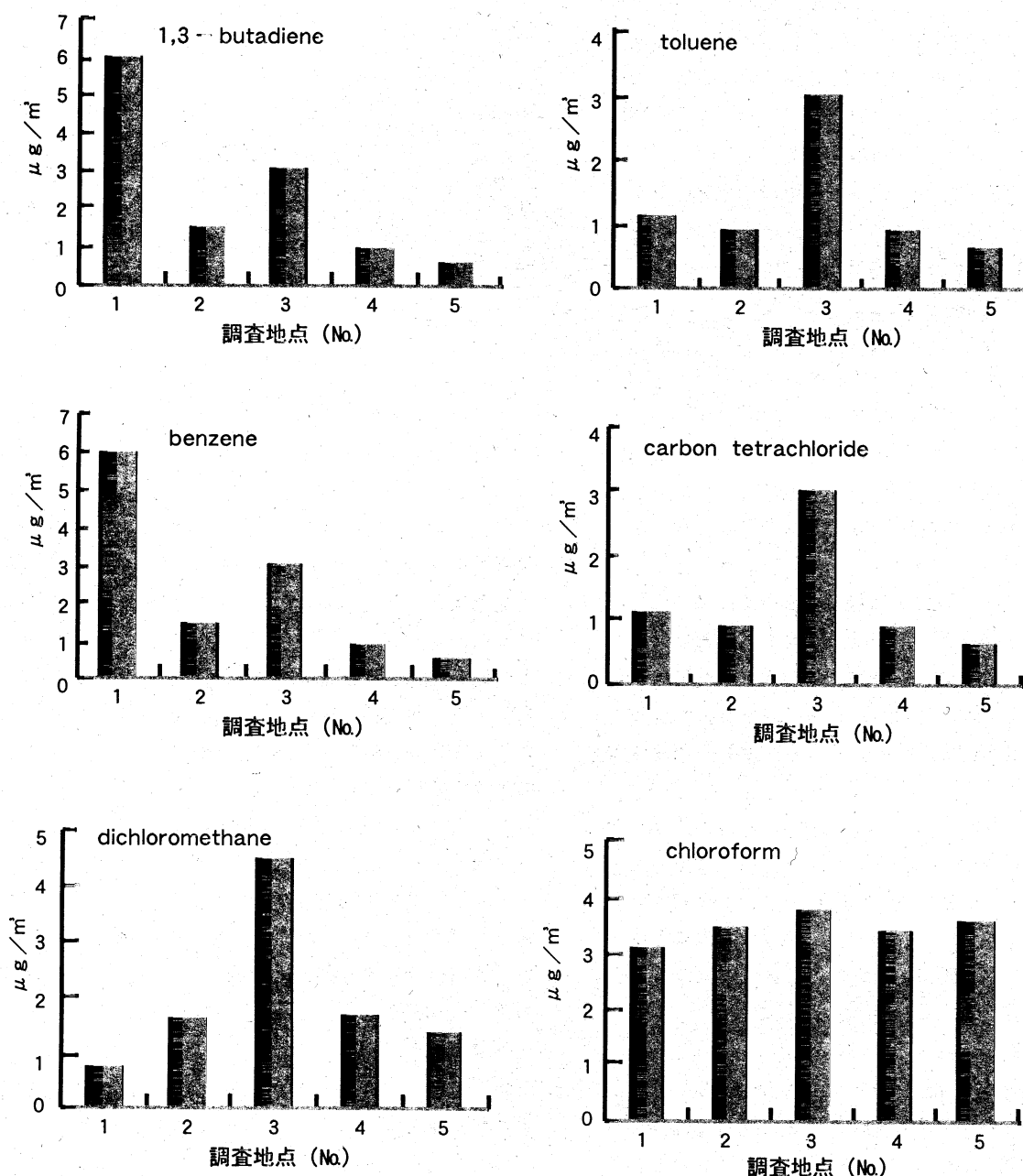


図2 周南市における有害大気汚染物質の濃度分布

benzeneやtolueneは国道2号線沿いにある辻自動車排ガス測定局の濃度が高く、そこから離れるほど次第に低濃度になっていることがわかる。tolueneが工場側でも少し高めの傾向があり、これはやや固定発生源の影響が見られるとしても、全体的には自動車排ガスに由来する典型的な移動発生源からの汚染と考えられる^{8,9)}。

しかし、1,3-butadieneは挙動が異なり、工場側のNo.1が異常に濃度が高く、今回の調査では工場由来の固定発生源が主な汚染源ということが示唆された。

他の傾向としては、dichloromethane, chloroform等の有機塩素系有害大気汚染物質は工場側の汚染が高く、carbon tetrachlorideはどの調査地点でもほぼ同じ濃度で汚染源はなく均一に拡散しており、これらは以前の調査や解析とも良く一致していた。¹⁻⁴⁾

また濃度は未計算だが、テルペン類のイソプレンは市内よりもNo.5の後背地が高濃度で、人為的な生成よりも植物から放出される量が圧倒的に多いことも示唆された。

(2) シミュレーションによる発生源の解析

主要な有害大気汚染物質の1つである1,3-butadieneについては、従来から移動発生源が主な汚染の原因と考えられていた。しかし、今回の調査では挙動が異なることから、周南市では工場由来の固定発生源が強く疑われた。

1,3-butadieneについては、周南市には国内有数の合成ゴム生産工場があり、大規模の固定発生源が存在する可能性がある。しかし、多地点での調査だけでは詳しいことは判明しない。そこで発生源シミュレーションプログラムMETILISを使用して、発生源との関係を解析した。

なお、発生源については1,3-butadieneの排出量などの詳細なデータが得られないため、正確な濃度によるシミュレーションは不可能である。そこで今回は相対的濃度を算出し、1,3-butadieneが一番高濃度となったNo.1の地点の実測値と合わせることで絶対濃度への換算をおこなった。

その結果を図3に示す。これを見ると、No.1の地点はちょうど最も濃度の高くなる条件だったことがわかる。また、No.2地点の濃度は推定された濃度と良く一致していた。No.3の地点では計算結果よりも濃度がかなり高くなっているが、これは国道2号線沿いのため自動車排ガスによる影響が現れていることを示している。この影響は他の地点でも見られ、発生源から距離が離れても濃度のベースラインが上がっている原因と考えられ

る。

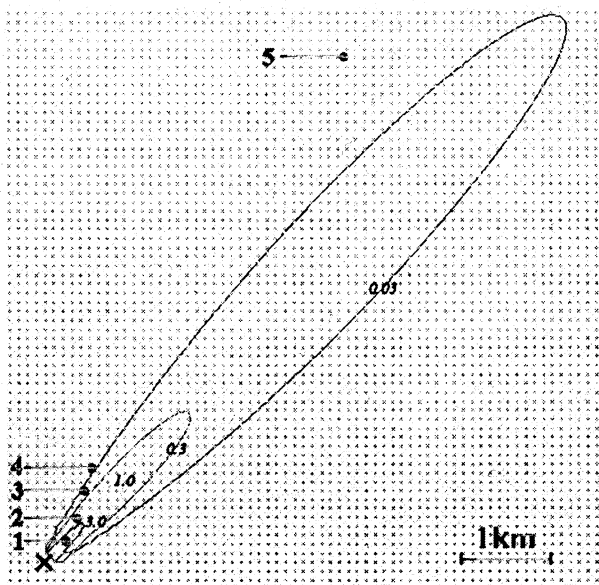


図3 METILISによる1,3-butadieneのシミュレーション

×印：発生源、黒丸：各調査地点(1~5)、コンターの濃度は $\mu\text{g}/\text{m}^3$

なお、今回は宇部市においても2002年7月30日に同様なフィールド調査をおこなったが、全体的に均一な低い濃度となり詳しい解析にはいたらなかった。これは調査時の風速が4~5m/s、風向が東であり、工場地帯の北東側に沿って設定した5つの調査地点には工場からの影響が全く関与しなかったためと考えられる。このことは、風向きの影響で同じ地点でも全く逆の結果が得られる可能性を示している。今後も、さらに多数の条件でシミュレーションを試みフィールド調査の実測値と比較する必要があるだろう。

このように、METILISのシミュレーションと実際の測定値は良く一致しており、発生源近くであっても風向きの影響で大幅に濃度の変化する大気濃度の測定には非常に有効であるといえる。工場における詳しい排出量などのパラメータの問題も残っているが、これはPRTR等により詳細なデータが解明されれば、より精度の良いデータが得られるであろう。

発生源からの大気汚染物質濃度シミュレーションはいずれもガウス型プルームモデルであり、EPAが作成したICS3モデル¹⁰⁾が基本となっているが、これらは古典的なSOx, NOxといった煙道排ガスの拡散を目的にプログラムが作られていた。しかし、METILISは有害大気汚染物質用にサポートされており、より詳しい解析ができるようになっている。また、計算モデルもさらなる改良が

進んでおり¹⁰⁾、こういったシミュレーション手法は今後
も期待できるものがある。

このようにMETILISは有害大気汚染物質の発生源を
解析する手段として非常に有効であった。複数の発
生源のシミュレーションも計算できることから、特に工場
地帯の詳細な汚染の分布を調べるには有益な解析ツール
と考えられる。

まとめ

今回の調査では発生源が自動車排ガス、近くの工場群
と他種類にわたる場所での挙動を解析しなければならな
かったが、調査地点を数多くとることにより発生源を推
定することができた。

また、METILISプログラムを使用することで、固定発
生源からの有害大気汚染物質の拡散の様子を詳細にシミ
ュレートでき、固定発生源の確認と汚染の拡散状況を詳
細に調べることができた。

このようにシミュレーションプログラムは、有害大気
汚染物質の濃度分布予測に役立てることができ大変有益
であるといえる。

謝 辞

有害大気用発生源シミュレーションプログラムを作成
し無料で使用できるよう便宜を図っていただいた関東経
済産業局およびその関係者に感謝します。

文 献

- (1) 長田健太郎ほか：山口県環境衛生職員業務研究集録，
39, 50～52 (1999)
- (2) 長田健太郎：大気環境学会年会講演要旨集，40，
532 (1999)
- (3) 長田健太郎ほか：山口県環境保健研究センター業績
報告，20, 11～14 (1999)
- (4) 長田健太郎ほか：大気環境学会中四国ブロック大会
講演要旨集，1～8 (2000)
- (5) 経済産業省一低煙源工場拡散モデル METI-LISモ
デル取扱説明書 Ver.1.02，関東経済産業局，
(2001)
- (6) <http://www.jemai.or.jp/ems/meti-lis.htm>
- (7) 詳細リスク評価書 1, 3--ブタジエン，(独) 産業技
術総合研究所，化学物質リスク管理研究センター
(2002)
- (8) 三浦米吉ほか：大気環境学会年会講演要旨集，39，
495 (1998)
- (9) 増田厚ほか：大気環境学会年会講演要旨集，39，

494 (1998)

- (10) Industrial Source Complex Model 3 : [http :
//www.epa.gov](http://www.epa.gov) (1995)
- (11) 河野 仁：大気環境学会誌，35 (3)，133～143
(2002)